



**INCIDENCIA DE CRIPTOSPORIDIOSIS EN PACIENTES
HOSPITALIZADOS Y EN PERSONAS NO HOSPITALIZADAS
Y ASINTOMATICAS. EVALUACION DE METODOS
DE DIAGNOSTICO.**

TESIS

**QUE EN OPCION AL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGIA MEDICA**

PRESENTA:

ELBA GUADALUPE RODRIGUEZ PEREZ

MONTERREY, N.L.

DICIEMBRE DE 1990

TM
Z6658
FM
1990
R6



1020071191



INCIDENCIA DE CRIPTOSPORIDIOSIS EN
PACIENTES HOSPITALIZADOS Y EN
PERSONAS NO HOSPITALIZADAS
Y ASINTOMÁTICAS.
EVALUACION DE
METODOS DE
DIAGNOSTICO.

POR

ELBA GUADALUPE RODRIGUEZ PEREZ

TESIS PRESENTADA A LA
FACULTAD DE MEDICINA
DE LA
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
COMO REQUISITO PARCIAL PARA
LA OBTENCION DEL GRADO DE

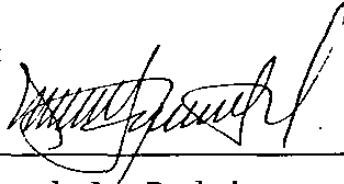
MAESTRO EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGIA MEDICA

Monterrey, N. L.

Diciembre de 1990.

COMISION DE TESIS DE MAESTRIA.

PRESIDENTE:



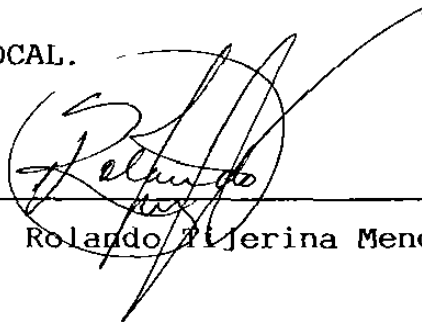
Dr. Manuel A. Rodriguez Q.

SECRETARIO:



M.C. Irma A. Salinas González.

1er. VOCAL.



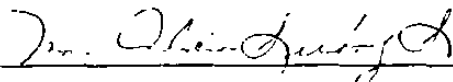
Dr. Rolando F. Jerina Menchaca.

2o. VOCAL:



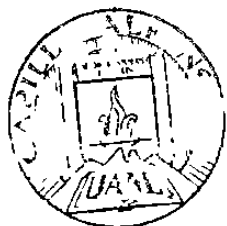
Dr. Jacobo Ayala.

3er. VOCAL:



M.C. Ma. Alicia Suárez Semour.

TM
76658
FM
1990
R6



FONDO TESIS
163664

El presente trabajo se llevó
a cabo en el Dpto. de Micro-
biología de la Facultad de -
Medicina de la U.A.N.L.

Asesor Interno

Dr. Rolando Tijerina Menchaca.

A Tí:

De mañana Te busco, hecho
de Luz concreta, de espa
cio puro y tierra amaneci-
da, de mañana te encuen--
tro, Vigor, Origen, Meta_
de los profundos ríos de _
la vida.

A mis padres:

Ing. Manuel V. Rodríguez.
Eglantina Pérez de Rodríguez.

A mis hermanos:

Dra. Alma Silvia Rodríguez
Ing. Héctor Manuel Rodríguez.
M.C. en arte Jaime Flores.

¡ CON AMOR ¡

Con agradecimiento especial
para aquellas personas que
me brindaron su amistad y
su apoyo.

¡ Solo con el corazón se puede ver
bien, lo esencial es invisible_
a los ojos ¡

Saint Exupery.

Con agradecimiento:

Dr. Jacobo Ayala

Q.C.B. Anita Leal.

INDICE

INTRODUCCION.....	1
MATERIAL Y METODOS	9
RESULTADOS	18
DISCUSION	31
CONCLUSIONES	39
RESUMEN	41
BIBLIOGRAFIA	43

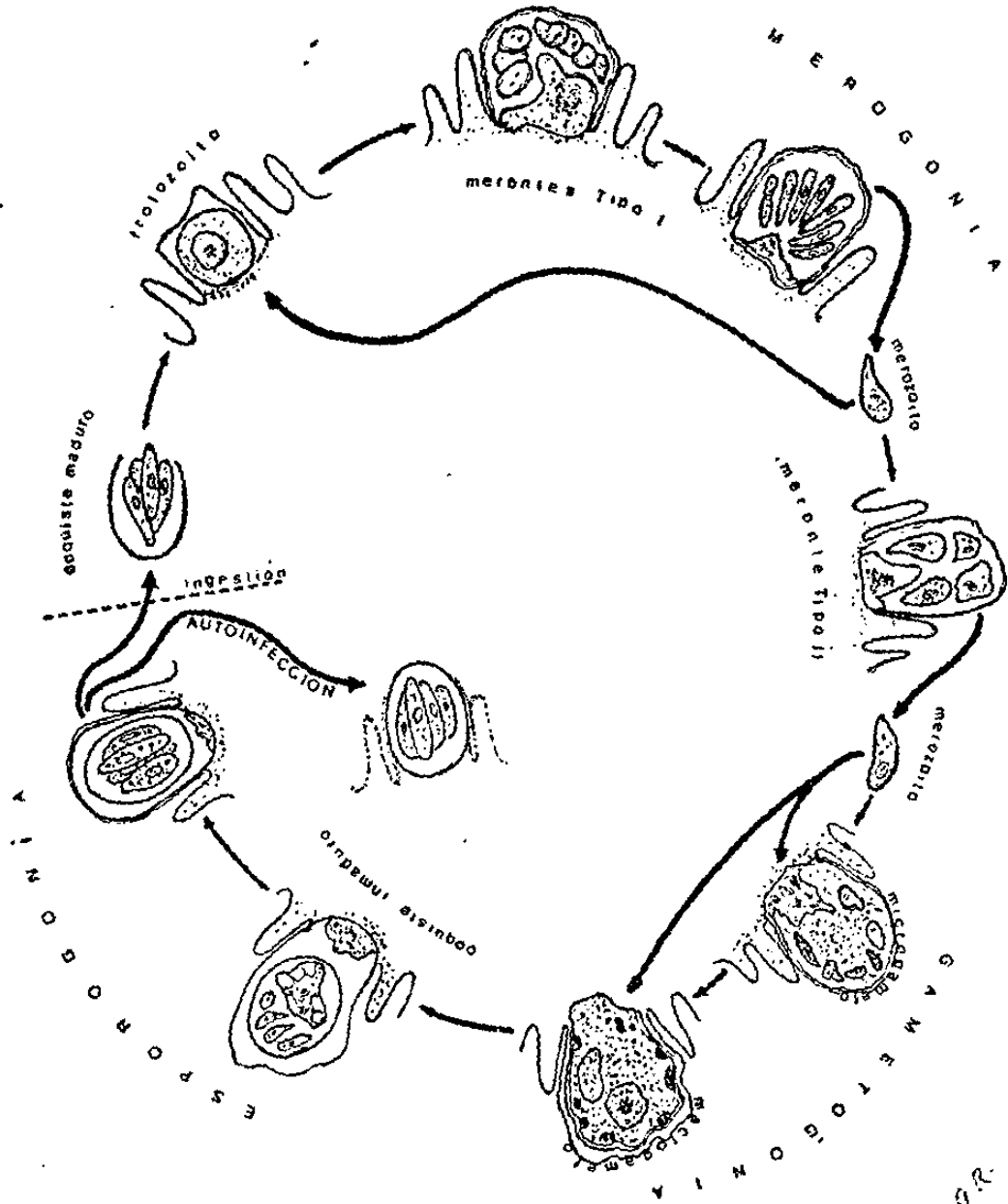
INTRODUCCION

El protozoario intestinal Cryptosporidium spp., pertenece al Phylum Apicomplexa, a la Clase Sporozoasida y a la Familia Cryptosporidiidae. Este esporozoario tiene la facultad de efectuar su ciclo biológico, debajo de la membrana citoplasmática de los enterocitos, formando ahí una "vacuola parasitófora" (7, 10). (Ver cuadro de Clasificación)

Clasificación taxonómica del <u>Cryptosporidium</u> spp.		
Phylum	Apicomplexa	Complejos "Apicales" son anillos polares, Rhoptries, micronemas, conoides y microtubulos subpelliculares.
Clase	Sporozoasida	Locomoción de las formas invasoras por flexión del cuerpo, ondulación o deslizamiento.
Subclase	Coccidiasina	Su ciclo biológico, pasa por una merogonia, gametogonia, y esporogonia.
Familia	Cryptosporidiidae	Son homoxénicos, (un solo huésped). Llevan su ciclo, justo debajo de la membrana celular de los enterocitos. Los oocistos poseen cuatro esporozoitos. Los microgametos no son flagelados.

Su ciclo biológico dentro de las células del huésped, pasa por las fases de merogonia, gametogonia y esporogonia. Esta última, da origen a las formas infectivas, que son los oocistos. Estos pueden tener pared delgada que son a los que se debe el proceso de autoinfección y los de pared gruesa

Ciclo biológico de Cryptosporidium sp.



que son los que el hombre adquiere por fecalismo o por contactos sexuales aberrantes (7, 10, 12, 23, 25, 34). (ver ciclo biológico)

Se han encontrado tres especies importantes: Cryptosporidium parvum, cuyos ooquistes miden de 5.3 a 6.5 um. y es el responsable de diarreas en humanos y bovinos; el Cryptosporidium muris, que posee ooquistes que miden de 6.5 a 7.5 um., que solamente se ha asociado con diarreas en ratones y bovinos. Por último el Cryptosporidium baileyi, de quién sus ooquistes miden de 4.2 a 6.2 um., el cual ha sido recientemente aislado del intestino de las aves. Tzipori ha sugerido que se le siga denominando por su nombre genérico, porque al afectar a un gran número de huéspedes demuestra que no tiene una especificidad y que al final pase como con el Toxoplasma gondii, que se le clasificó como a una sola especie (7, 10, 34).

Tyzzar en 1907, describió una infección intestinal en ratones originada por esta coccidia y desde esa fecha, era conocida como una zoonosis (22, 23, 25, 32, 34). Y no fué hasta que setenta años después, que se le comenzó a relacionar como agente causal de diarreas en humanos (7, 10, 14, 15, 17, 22).

Pero cuando apareció el Síndrome de Inmunodeficiencia Humana, esta coccidia adquirió gran importancia, al diagnosticarse que la mayoría de las gastroenteritis presentadas -- por este tipo de pacientes era debida al Cryptosporidium --- spp., el cual aprovecha la inmunosupresión del huésped para_ provocarle una diarrea profusa prolongada llevandolo a la -- muerte, al no responder este a ningún tratamiento. Este he-- cho ha catalogado a este protozooario en el grupo de " oportu nistas ", junto con el Toxoplasma gondii, Pneumocystis cari nii e Isospora hominis (18, 23, 25, 30, 31, 36, 39).

Al irse conociendo la epidemiología de la Criptosporidio

Epidemiología:

- *Afecta a personas inmunosuprimidas.
 - Inmunodeficiencia congénita.
 - Terapia inmunosupresora.
 - SIDA.

- *Afecta a personas inmunocompetentes.
 - Manejadores de animales.
 - Casos esporádicos.
 - Homosexuales.
 - Diarrea del viajero.
 - Contactos caseros con pacientes infectados.
 - Personal de hospital.
 - Guarderías.
 - Residentes en países subdesarrollados.

sis se demostró, que esta parasitosis afecta también a sujetos inmunocompetentes, pues en su transmisión esta implicado el fecalismo (7, 10, 15, 17, 23, 31, 40). (Como aparece en el cuadro anterior)

Otro hecho epidemiológico importante, es la existencia de " portadores asintomáticos ", que junto con los convalescientes excretan las formas infectivas en materia fecal, por intervalos prolongados (7, 10), dando lugar a que el Cryptosporidium spp., ocupe el primer lugar como agente causal de gastroenteritis por protozoarios, especialmente en los países subdesarrollados (19, 25).

El cuadro clínico, tiene un período de incubación de una a dos semanas, en sujetos inmunocompetentes, se caracteriza por una diarrea acuosa, la cual se presenta más de cuatro veces al día durante dos o tres semanas, pudiendo provocar desequilibrio hidroelectrolítico (29, 32, 38), aunque el cuadro es autolimitado (10, 15, 25).(Cuadro siguiente)

Cuando la Criptosporidiosis, se presenta en pacientes que tienen un compromiso inmunológico, esta se presenta en forma de una " diarrea acuosa profusa ", con 15 a 25 evacua-

ciones diarias, durante los cuales se puede perder de 3 a 17 - litros de agua por día, de tal manera que la hospitalización - es necesaria, para evitar la deshidratación del paciente, el - cual sufre de emaciación extrema, lo puede inducir a la muerte, al no ser autolimitada (10, 23, 25).

Cuadro clínico:

Inmunocompetentes.

- Diarrea acuosa/4 veces al día, durante 10 a 14 días.
- Dolor abdominal tipo cólico.
- Anorexia.
- Pérdida de peso.
- Malestar general.
- Autolimitada.

Inmunosuprimidos.

- Diarrea acuosa profusa/ 15 a 25 evacuaciones diarias.
- Duración desde 4 meses o hasta que viva el paciente.
- Hay gran cantidad de moco en la materia fecal sin sangre ni leucocitos.
- Puede haber fiebre.
- Dolor abdominal tipo cólico.
- Malabsorción.
- Pérdida de peso muy grande.
- Colecistitis/con dolor en hipocondrio derecho con persistentes náuseas y vómito/Enteritis severa.
- En estos pacientes puede causar Neumonía.

El mecanismo de patogenicidad del Cryptosporidium spp., -- aún no se ha determinado, pero se cree que cuando esta cocci - dia, se encuentra en intestino delgado, se adhiere al epitelio,

por medio de lectinas, de modo semejante a la Entamoeba histo-
lytica. Hecho esto se introduce debajo de la membrana citoplas-
mática de las células intestinales y probablemente, elabora
una enterotoxina tipo Vibrio cholerae, que activa la ciclase de
adenilato, incrementando la concentración local de Monofosfato_
Cíclico de Adenosina (AMPC), dando por resultado una hipersecre-
ción intensa y prolongada de agua y cloruros, inhibiendo la re-
absorción de sodio. De tal manera que la luz intestinal se dis-
tiende con líquido, sobreviniendo así una hipermotilidad y por-
ende, la diarrea acuosa (10, 17, 19, 22, 30).

Lo que sí se ha comprobado a través de biopsias y autop-
sias, es que este esporozooario, destruye los bordes de las ve-
llosidades intestinales, las fusiona y las reduce de tamaño, --
originando en el huésped una malabsorción (11, 22, 28).

Actualmente se considera al Cryptosporidium spp., como el -
protozoario intestinal, ocupante del primer lugar, como agente_
causal de diarreas en el mundo y como cuarto enteropatógeno, --
causante de gastroenteritis (1, 14, 16).

Los datos tan escasos acerca de la incidencia, de esta --
parasitosis en la República Mexicana, la dificultad tan grande,
para el reconocimiento al microscopio, de esta coccidia, por --

los métodos parasitológicos de rutina. El desconocimiento de las técnicas adecuadas para su diagnóstico, nos indujeron a elaborar este trabajo.

Hipótesis: Nuestra hipótesis es que, diagnósticos clínicos graves tales como: cáncer, lupus eritematoso, neumopatías crónicas, hemofilia y SIDA, influyen para que en pacientes hospitalizados, se presente un incremento en la incidencia de --- Criptosporidiosis, debido a que estos cuadros clínicos actuarían como factores predisponentes, al provocar en estos sujetos, un inmunocompromiso, que los hace ser susceptibles a adquirir o sufrir recidivas, originadas por esta coccidia. Hecho que comprobaríamos estadísticamente, al comparar esta incidencia con la de personas no hospitalizadas y asintomáticas, con una prueba de X^2 (Ji cuadrada).

Objetivos: Para lograr demostrar la presencia de Cryptosporidium spp., en muestras de materia fecal, nos propusimos como objetivo de este trabajo, evaluar seis técnicas de diagnóstico parasitológico, determinando también la sensibilidad y especificidad de estos métodos.

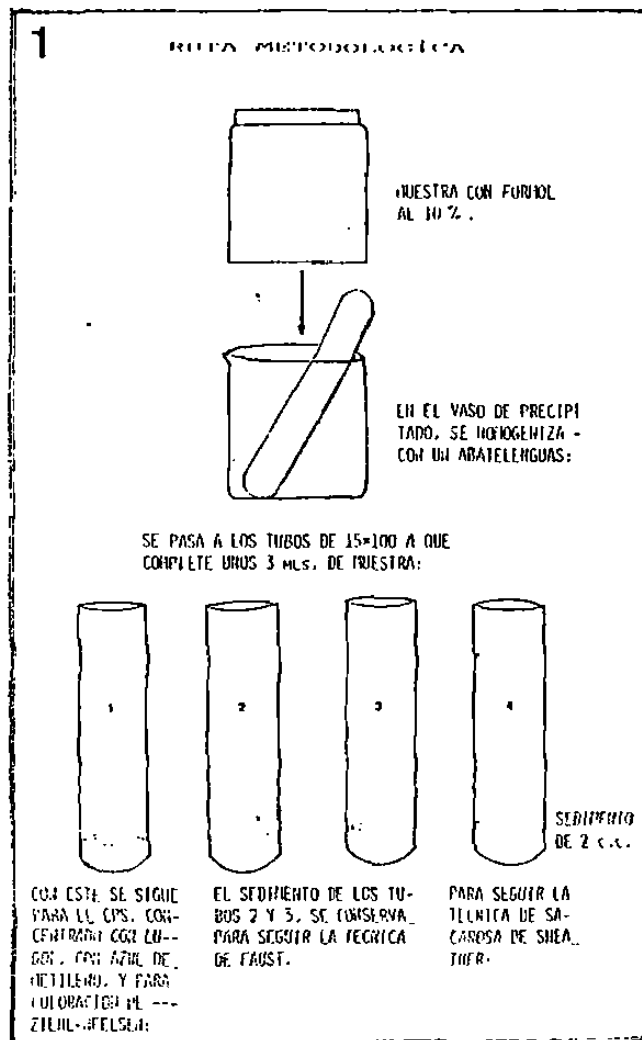
MATERIAL Y METODOS

Tamaño de la muestra.- Durante los meses de Marzo a Septiembre de 1987, se recolectaron 347 muestras de materia fecal, las cuales provenían de pacientes de la Clínica No. 25 del I.M.S.S. (Altas especialidades). Se colectaron también 74 muestras de personas no hospitalizadas y asintomáticas.

Ruta metodológica.- Las muestras se recogieron en frascos de vidrio transparente, que contenía como conservador, una solución de formol al 10% (5, 6, 10), Ahí mismo se homogenizó con un abatelenguas y se pasó a un vaso de precipitado de 250 mls. y de ahí a 4 tubos de 15 X 100 mm., que se rotularon 1, 2, 3, 4. La cantidad de muestra fué lo suficiente para que al centrifugar a 500 Xg. durante un minuto, se pudiera obtener un sedimento de 2 c.c. en cada uno de los tubos cuando se decantó (2, 13, 16). (Ruta metodológica 1)

Con el sedimento del tubo 1, se trabajó el coproparasitoscópico concentrado por sedimentación y se observó al microscópio en seco fuerte (40X) y en inmersión (100X) con solución de lugol al 5% y azul de metileno Buffer de acetatos 0.2 M. pH.= 5.4 (40). De este mismo sedimento se practicó un

un frotis de materia fecal y se tiñó con la coloración de --
Ziehl-Neelsen modificada por García (14).



Con el sedimento de los tubos 2 y 3, se llevó a cabo la técnica de flotación centrifugación de Faust (9), utilizando un gradiente de densidad en sulfato de zinc de 1:180°B y 1:--

192°Baumé. Por último en el tubo 4, se llevó a cabo la técnica de flotación centrifugación de Sheather (25), en un gradiente de densidad de sacarosa de 1:270°B.

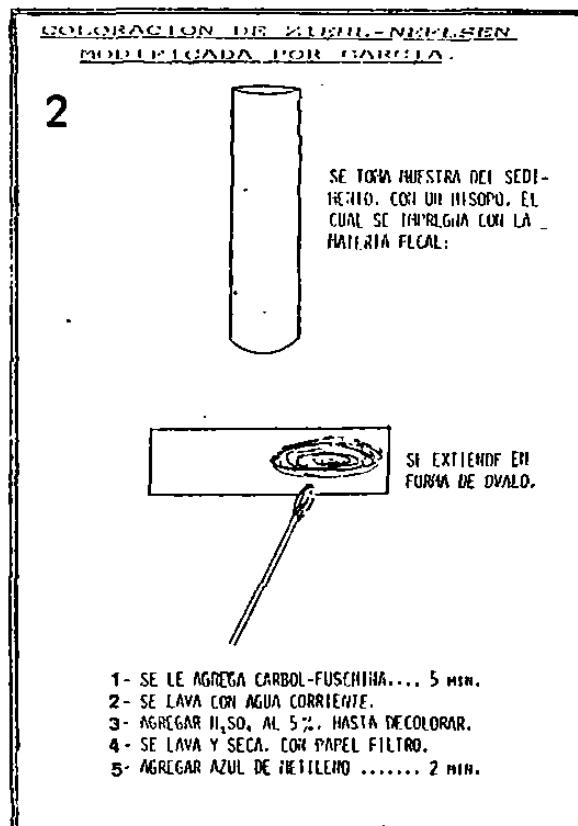
Manejo de las muestras mucosas.- A las muestras que tenían consistencia mucosa, se les agregó cinco gotas de KOH al 10%, una gota del indicador fenoftaleína y neutralizamos con HCl 0.1 N. se enjuagó y centrifugó dos veces a 500 Xg, durante 1 minuto y se trabajó hasta obtener un sedimento de 2 c.c. (29).

Técnica del Coproparasitoscópico concentrado, observado con lugol parasitológico al 5%.- Del sedimento obtenido del tubo 1, se tomó una muestra con la punta de un aplicador y se hizo una suspensión homogénea, en la gota de lugol que se puso en un portaobjeto de 25 X 75 mm., se colocó un cubreobjeto de 22 X 22 mm. y se observó con el microscopio con el objetivo seco fuerte (40X) y con el de inmersión (100X).

Técnica del Coproparasitoscópico concentrado, observado con azul de metileno Buffer de acetatos 0.2 M. pH.= 5.4 .- Del sedimento obtenido en el tubo 1, se tomó una muestra de materia fecal con la punta de un aplicador, y se hizo una suspensión homogénea con la gota de azul de metileno que se

puso en un portaobjeto de 25 X 75 mm., hecho esto se colocó un portaobjeto de 22 X 22 mm. y se observó al microscopio -- con el objetivo seco fuerte (40X) y el de inmersión (100X).

Frotis del sedimento de materia fecal, teñido con la -- técnica de Ziehl-Neelsen modificada por García.- Del sedi-- mento obtenido en el tubo 1, se tomó la muestra de materia -- fecal con un hisópo, y en el extremo de un portaobjeto de -- 25 X 75 mm. se hizo un frotis con giros oblongos, hasta que la preparación quedó homogénea pero muy delgada. (Cuadro 2)

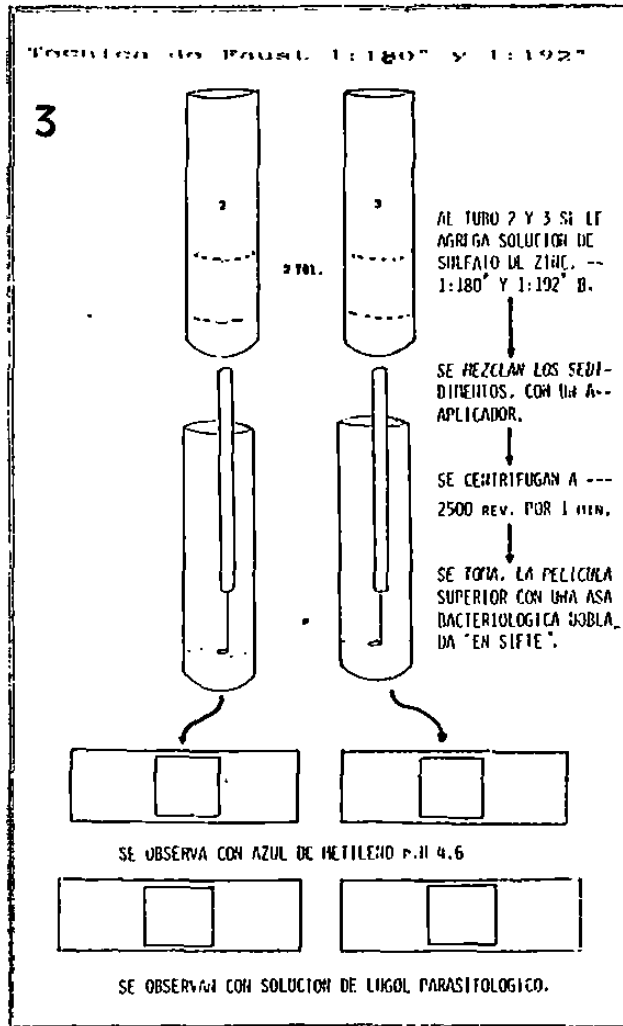


se secó totalmente al aire y se le agregó Carbol-Fuschina durante un minuto, después se decoloró con ácido sulfúrico al 10% y se contrastó con azul de metileno, el cual se dejó actuar durante 5 minutos. La preparación se fijó con resina y se observó al microscópio con seco fuerte (40X) y después con inmersión (100X).

Técnica de concentración-flotación de Faust, con densidades de 1:180°B. y 1:192°B. .- Se trabajó con el sedimento de los tubos 2 y 3, a estos se les agregó 4 mls. de la solución de sulfato de zinc, en el tubo 2 , con aquella cuya densidad fué 1:180°B. y en el tubo 3 , con 1:192°B., se mezclaron con un aplicador y se centrifugó a 500 Xg. durante un minuto en una centrífuga de ángulos horizontales. Con el asa bacteriológica, doblada en su extremo en ángulo de 90°, se tomó la película del menisco convexo que se formó en el tubo. Con ésta se hizo una suspensión en un portaobjeto de 25 X 75 mm. en solución de lugol y azul de metileno. Las preparaciones se observaron con seco fuerte (40X) e inmersión (100X). (Cuadro 3)

Técnica de concentración-flotación de Sheather, en un gradiente de sacarosa de 1:270°B. .- Al sedimento del tubo 4

se le agregó 4 mls. de la solución de sacarosa con un gra---
diente de densidad de 1:270°B., (500 grs. de sacarosa, 6.5_
grs. de fenol, en 320 mls. de agua destilada). Con un apli-



TÉCNICA DE SACAROSA DE SEDIMENTO.

4



AL SEDIMENTO, SE LE AGREGAN 2 VOL. DE SACAROSA 1:270°B. SE MEZCLA -- CON UN APLICADOR Y SE CENTRIFUGA, A 2500 REV. POR MIN.



SE TOMA LA PELICULA SUPERIOR, CON EL ASA BACTERIOLOGICA DOBLADA EN SIETE .



SE OBSERVA CON AZUL DE --
METILENO:



SE OBSERVA CON LUGOL:

cador se hizo una suspensión homogénea entre la sacarosa y la materia fecal y se centrifugó a 500 Xg. durante 5 minutos. Se dejó reposar 1 minuto en una gradilla y después con una asa bacteriológica doblada en un ángulo de 90° se tomó la película superficial del menisco convexo que se formó en el tubo de 15 X 100 y se hizo una mezcla en las gotas de lugol y azul de metileno que se encontraban en los portaobjetos de 25 X 75 mm., se puso el cubreobjeto de 22 X 22 mm., y se observó con el objetivo seco fuerte (40X) e inmersión (100X). (Cuadro 4)

Estadística.- Para determinar si el tamaño de la población trabajada era el adecuado, se utilizó el método estadístico de asignación proporcional. Y para demostrar nuestra hipótesis se utilizó una prueba de Xi cuadrada (X^2).

Método para determinar la sensibilidad y especificidad de los métodos de diagnóstico parasitológicos.- De acuerdo a Cañedo Dorantes (3) el cálculo de los valores de sensibilidad se hizo a partir de los valores obtenidos en cada una de las técnicas empleadas y se obtuvo de la forma siguiente:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{positivos verdaderos}}{\text{positivos verdaderos} + \text{negativos falsos}}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{negativos verdaderos}}{\text{positivos falsos} + \text{negativos verdaderos.}}$$

El criterio que se adopte para decidir, cuando son adecuados los valores anteriores, depende de la historia natural de la enfermedad.

Para obtener los valores observados en la Tabla No. 1, pondremos el ejemplo, de los resultados obtenidos con la técnica de Faust, con gradiente de densidad de sulfato de zinc 1:180°B.

$$\text{Sensibilidad} = \frac{10}{10 + 337} = \frac{10}{347} = .02$$

$$\text{Especificidad} = \frac{337}{10 + 337} = \frac{337}{347} = .90$$

RESULTADOS

Trabajamos con dos poblaciones, una de pacientes hospitalizados de la Clínica No. 25 del I.M.S.S. (Altas especialidades), y otra de personas no hospitalizadas y asintomáticas. Con la primera trabajamos 347 muestras y con la segunda 74.

Cuando revisamos expedientes, trabajamos 244 pacientes y sobre estos datos se aplicó el estudio estadístico de asignación proporcional, el cual nos dió un límite de confianza de 97% para la primera población y 99% para la segunda. Las muestras fueron recolectadas durante los meses de Marzo a -- Octubre de 1987.

Para el diagnóstico del Cryptosporidium spp., utilizamos seis métodos parasitológicos, en los cuales determinamos la sensibilidad y especificidad de cada uno de ellos de acuerdo al método empleado por Dorantes Cañedo (3). Se demostró que los mejores resultados, los obtuvimos utilizando la técnica de concentración por sedimentación de las muestras de materia fecal, pero alcanzó la mayor selectividad y especificidad, el frotis de heces teñido con la coloración de Ziehl-Neelsen

modificada por García. (Tabla No. 1)

TABLA No. 1					
FRECUENCIA DE CRIPTOSPORIDIOS. ENCONTRADOS CON LAS SEIS TECNICAS DE DIAGNOSTICO.					
TECNICAS DE SEDIMENTACION OBSERVADAS CON:			TECNICAS DE FLOTACION-CENTRIFUGACION OBSERVADA CON LUGOL Y AZUL DE METI- LENO.		
CPS-LUGOL	CPS-AZUL METILENO.	ZIEHL NEELSEN	FAUST 1:180*B.	FAUST 1:192*B.	SHEATHER 1:270*B.
50	50	134	10	-	-
14.4%	14.4%	38.7%	2.9%	-	-
SENSIBILIDAD. .14	.14	.40	.02	-	-
ESPECIFICIDAD. .85	.85	.97	.90	-	-
TOTAL DE MUESTRAS - 347					

De acuerdo a la Tabla No. 2 , encontramos que en los 119_ pacientes positivos para la coccidia estudiada, se encontró un 56.3% (67 pacientes) que en su materia fecal, se encontraba el Cryptosporidium spp., como único agente parasitario, mientras_ que en un 21.8% (26 pacientes) éste esporozooario venía acompa- ñado con Blastocystis hominis, en un 5.1% (6 pacientes) se le encontro junto con abundantes leucocitos polimorfonucleares--- (posible asociación con infecciones bacterianas). Y en un -- 10.9% (13 pacientes) asociado con otros agentes parasitarios.- (Tabla No. 3)

En el 10.9% anterior, se encontró que en un 4.2% (5 pacientes) nuestra coccidia estuvo asociada con Entamoeba histolytica

TABLA No. 2

DE LOS 119 PACIENTES POSITIVOS PARA
Cryptosporidium sp., SE DETERMINO LO SIGUIENTE:

RESULTADOS	No. M	%
Positivo solo para <u>Cryptosporidium</u> sp.	67	56.3
<u>Cryptosporidium</u> sp., MAS <u>Blaschewitzia</u> sp.	26	21.8
<u>Cryptosporidium</u> sp., MAS <u>Candia</u> sp.	7	5.9
<u>Cryptosporidium</u> sp., MAS L.P.A.A.	6	5.1
<u>Cryptosporidium</u> sp., MAS OTROS PARASITOS.	13	10.9
T O T A L	119	100.0

en un 2.5% (3 pacientes) con Giardia lamblia, un 2.5% (3 pacientes) con Hymenolepis nana y en 1.7% (2 pacientes) con Ascaris lumbricoides.

En el total de las 347 muestras de materia fecal de pacientes hospitalizados, nos resultaron 176 muestras positivas, en las cuales no se incluyen a los criptosporidios (Tabla No. 4) -- aquí se obtuvo que: un 3.4% (12 muestras) con Entamoeba histolytica, un 1.7% (6 muestras) con Giardia lamblia, un 2.0% (7 mues-

TABLA No. 3

OTROS PARASITOS QUE ACOMPAÑAN AL
Cryptosporidium sp. (el 10.9% anterior)

COMBINACIONES	No M	%
<u>Entamoeba histolytica</u>	5	4.2
<u>Giardia lamblia</u>	3	2.5
<u>Hydrocotyle cana</u>	3	2.5
<u>Ascaris lumbricoides</u>	2	1.7
T O T A L	3	10.9

TABLA No. 4

DISTRIBUCION DE MUESTRAS POSITIVAS Y NE-
GATIVAS ENTRE NOSOTROS Y EL I.N.S.S. -
EXCLUYENDO AL Cryptosporidium sp.

MUESTRAS	MUESTRAS	CLINICA No. 75
TOTAL POSITIVAS	176 (+)	57 (+)
TOTAL NEGATIVAS	171 (-)	296 (-)
T O T A L	347	347

tras) con Hymenolepis nana, un 0.6% (2 muestras) con Ascaris --

TABLA No. 5

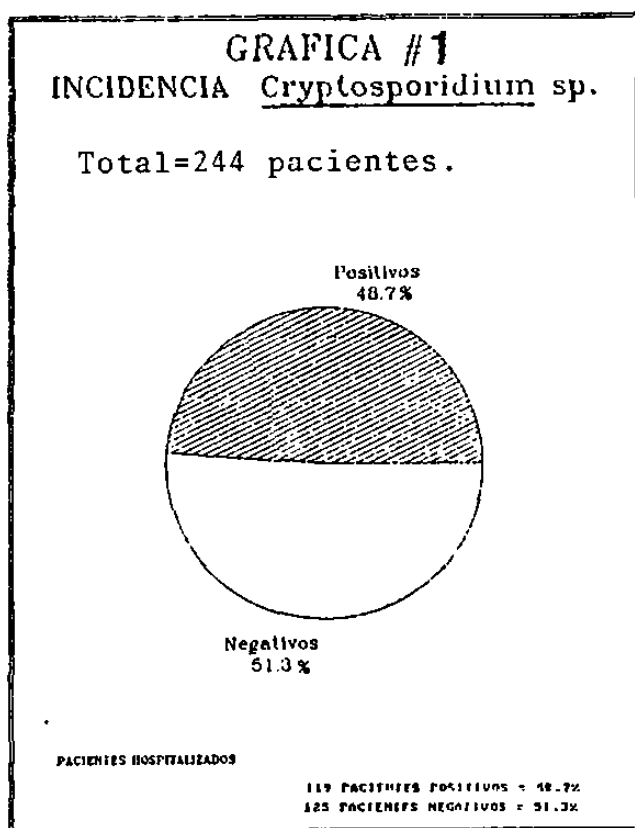
DE LAS 176 (100.0%) MUESTRAS POSITIVAS, QUITAMOS
LO SIGUIENTE EXCLUYENDO AL Cryptosporidium sp.

RESULTADOS	No.	%
<u>Entamoeba histolytica</u>	12	3.4
<u>Giardia lamblia</u>	6	1.7
<u>Hymenolepis nana</u>	7	2.8
<u>Ascaris lumbricoides</u>	2	.6
<u>Candida</u> sp. (abundantes)	63	18.2
<u>Blastocystis hominis</u>	43	13.8
* L. P. M. N.	29	8.4
<u>Entamoeba coli</u>	6	1.7
<u>Endolimax nana</u>	6	1.7
T O T A L	176	58.72

* Leucocitos polimorfonucleares.

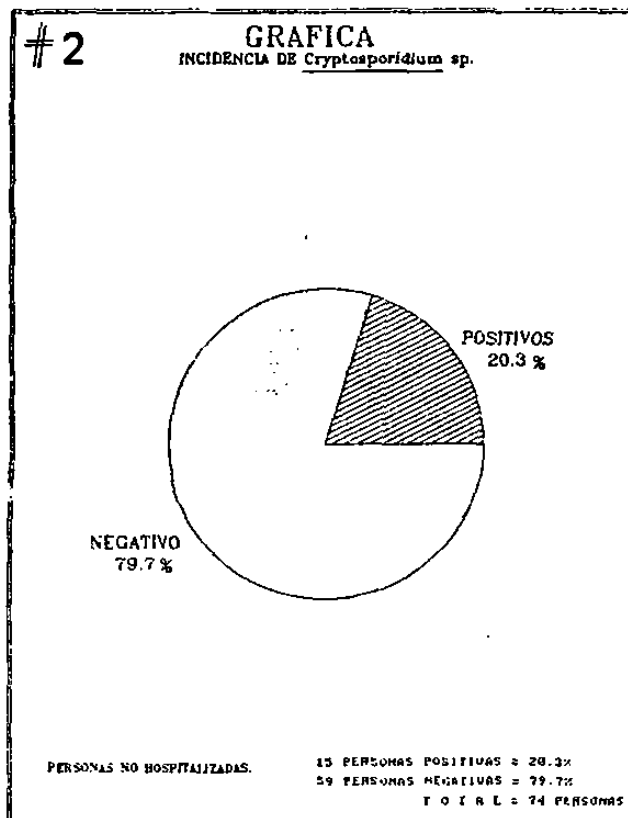
lumbricoides, un 18.2% (63 muestras) con Candida spp., y un --
1.7% (6 muestras) igual para Entamoeba coli y Endolimax nana.

Al determinar en las dos poblaciones estudiadas, la incidencia de Criptosporidiosis, se encontró que en los 244 pacientes hospitalizados y escogidos al azar, no se sabía si tenían diarrea. Se obtuvieron 119 (48.7%) positivos para el Cryptosporidium spp. y 125 (51.3%) negativos. (Gráfica No. 1).



La segunda población con la que se trabajó, fue de personas hospitalizadas y asintomáticas, encontrando en esta que entre las 74, 15 de ellas (28.3%) fueron positivas para el ----

Cryptosporidium spp., y 59 (79.7%) fueron negativos. (Gráfica No. 2) Al comparar la frecuencia de Criptosporidiosis, entre-



la población de pacientes hospitalizados y las de personas no hospitalizadas y asintomáticas, y hacerles una prueba de Xi - cuadrada (χ^2), determinamos que $X_0^2 > X_c^2$ ($P_0 = .05$ y $P_0 = .01$) llegando a la conclusión que la incidencia tan alta de Criptosporidiosis entre los pacientes hospitalizados, comparada con la

TABLA No. 6

χ^2 (Ji cuadrado) ENTRE PACIENTES HOSPITALIZADOS Y PERSONAS NO HOSPITALIZADAS.

VALORES OBSERVADOS			
	+	-	TOTAL
HOSPITALIZADOS	119	125	244
NO HOSPITALIZADOS	52	22	74
T O T A L	171	147	318

VALORES ESPERADOS			
	+	-	TOTAL
HOSPITALIZADOS	131	113	244
NO HOSPITALIZADOS	40	34	74
T O T A L	171	147	318

$$D = \frac{[(119-131) - .5]^2}{131} + \frac{[(52-40) - .5]^2}{40} +$$

$$\frac{[(125-113) - .5]^2}{113} + \frac{[(22-34) - .5]^2}{34}$$

$$D = 1.0095 + 3.3862 + 1.1703 + 3.8997 = 9.476$$

$$\alpha = .05$$

$$P_{\alpha} - \alpha = .05 = 3.841$$

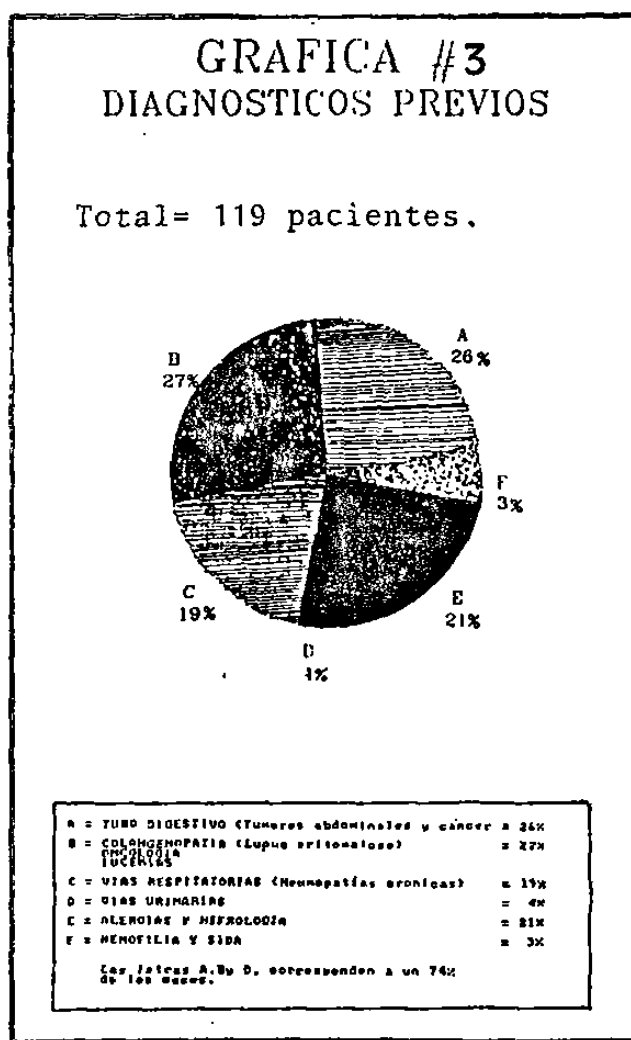
$$P_{\beta} - \alpha = .01 = 6.635$$

$$\text{Como } \chi^2_c > \chi^2_c$$

Se determina que hay una valor afectivo. Factor predisponente.

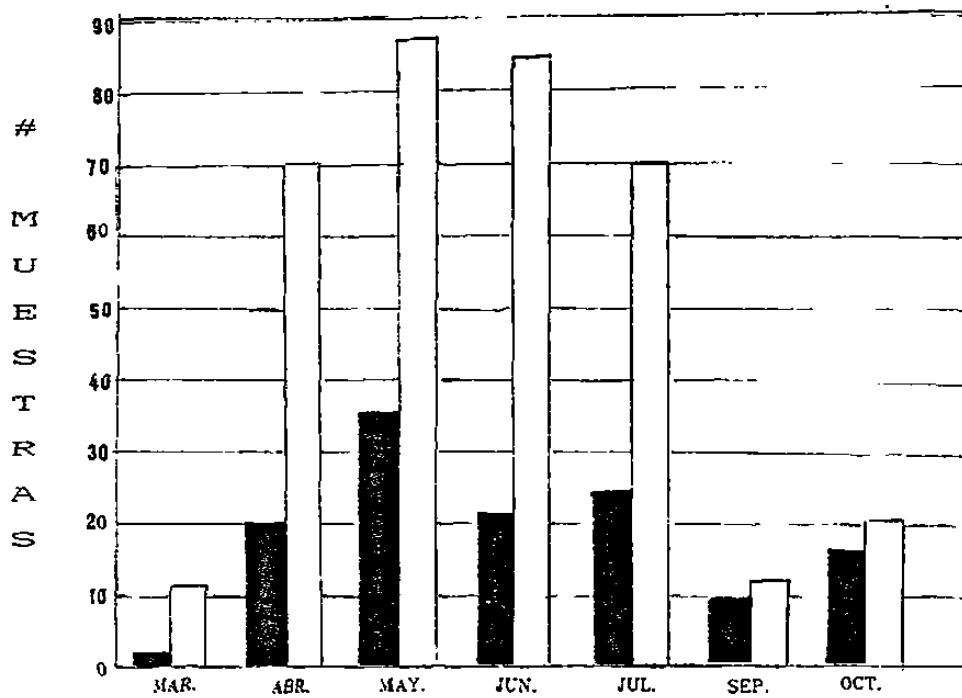
de los no hospitalizados y asintomáticos se debía a un factor predisponente. (Tabla No. 6)

Los pacientes hospitalizados poseían un diagnóstico clínico previo de tipo grave (Gráfica No. 3), pues un 26% (31 pa



#4

D I S T R I B U C I O N
D E
M U E S T R A S



□ 347 MUESTRAS RECIBIDAS POR MES.

■ 119 MUESTRAS POSITIVAS PARA
Cryptosporidium spp.

cientes) habían sido internados con problemas en tubo digestivo (tumores abdominales y cáncer), un 27% (32 pacientes) con colangenopatías (lupus eritematoso), con problemas oncológicos y leucemias, un 19% (22 pacientes) afectados en vías respiratorias (neumopatías crónicas), un 4.0% (5 pacientes) con problemas en vías urinarias, un 21% (25 pacientes), con diagnósticos de alergias y nefrológicos y por último un 3% (4 pacientes) con hemofilia y SIDA.

Las muestras se recolectaron, durante los meses de Marzo a Octubre (Gráfica No. 4) la máxima frecuencia de muestras positivas se obtuvo en mayo.

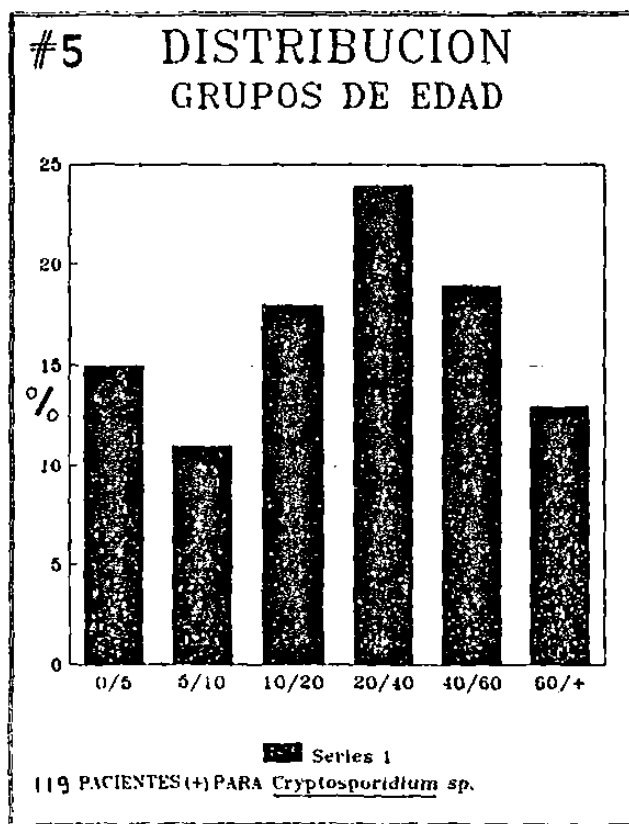
Al hacer la distribución de frecuencia de acuerdo al sexo

TABLA No. 7
FRECUENCIA DE CASOS DE CRYPTOSPORIDIOSIS
DE ACUERDO AL SEXO DEL PACIENTE.

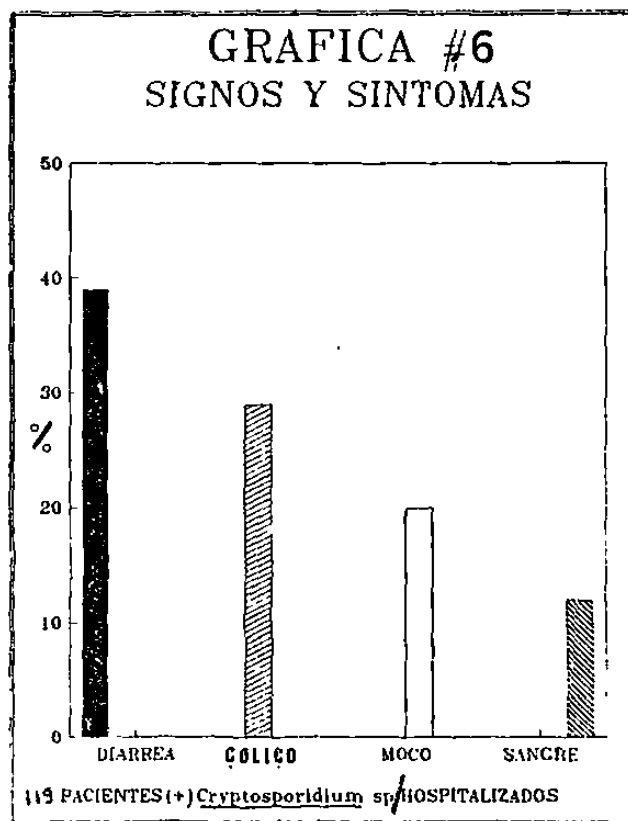
SEXO DEL PACIENTE	No.	%
MASCULINO	61	51.3
FEMENINO	58	48.7
T O T A L	119	100.0

de los pacientes, se encontró que 61 (51.3%) pertenecían al - sexo masculino y 58 (48.7%) al femenino, por lo que no encontramos una diferencia en susceptibilidad para ambos sexos. -- (Tabla No. 7)

Al conocer la edad de los 119 pacientes hospitalizados y positivos para Cryptosporidium spp., (Gráfica No. 5) se obtuvo la máxima frecuencia entre los 20/40 años de edad.



Con los mismos pacientes positivos y a través de los expedientes encontramos, (Gráfica No. 6) que un 39% (46 pacientes) sufrían de diarrea, mientras que un 61% (73 pacientes) fueron negativos para tal signo. Un 20% (35 pacientes) presentaban cólico abdominal, un 20% (24 pacientes) la materia fecal venía acompañada de gran cantidad de moco y un 21% (14 pacientes) presentaba sangre en heces.



DISCUSION

La Criptosporidiosis se ha reportado en personas inmunosuprimidas (7, 14, 18), inmunodeficientes (27, 29), y en la actualidad en sujetos inmuno competentes (38, 39). En nuestro país - casi no existen datos de la incidencia de esta parasitosis, por lo cual nos hemos avocado a este estudio.

Escogimos dos poblaciones, una de pacientes hospitalizados que pertenecían a la Clínica No. 25 del I.M.S.S. (Altas Especialidades). La otra fué de sujetos no hospitalizados y asintomáticos. El número de muestras fecales fué de 347, para los hospitalizados y 74 para los no hospitalizados y asintomáticos. El universo estadístico se determinó por el método de Asignación proporcional y ambas alcanzaron un límite de confianza, para la -- primera de 97% y para la segunda de 99%.

Para el diagnóstico de el Cryptosporidium spp., los primeros estudios se basaban en la identificación de esta coccidia -- por medio de una biopsia de intestino delgado (7, 21, 22, 24). - Esta técnica se fué abandonando porque era necesario tomar una muestra de tejido sumamente grande para obtener resultados confiables y además causaba molestias al paciente, la prueba era -- muy costosa, pues es necesario utilizar el microscopio electróni

co. Poco después Soave (30), demostró que había tres técnicas sencillas con las cuales se podía hacer el diagnóstico de la Criptosporidiosis adecuadamente y estos métodos fueron: el coproparasitoscópico con lugol, la técnica de flotación de Sheather (25), y la tinción de Ziehl-Neelsen modificada por García_ (13).

Nosotros decidimos trabajar nuestras muestra fecales, siguiendo las técnicas de Soave, pero agregando tres más. El coproparasitoscópico de Faust, con gradientes de densidad en sulfato de zinc de 1:180°B y 1:192°B. (9), el coproparasitoscópico concentrado por sedimentación y observado con lugol parasitológico (5%) y con azul de metileno Buffer de acetatos 0.2 M., y pH.= 5.4 (39). Es importante hacer notar que todas las muestras se conservaron en formol al 10% (5, 14), se homogenizaban en esa misma solución y se procedía a concentrarla por un proceso de centrifugación, trabajando al final con un sedimento de 2 c.c. de muestra, procedimiento que Soave(30)no utiliza en su trabajo.

Los mejores métodos de diagnóstico para la Criptosporidiosis según nuestro trabajo, fueron aquellas en las que utilizamos la técnica de sedimentación y con ésta se hacía un copropa-

rasitoscópico concentrado, el cual se observó con solución de lugol parasitológico y azul de metileno Buffer de acetatos y el frotis de materia fecal teñido con la coloración de Ziehl-Neelsen modificada por García, logrando así el objetivo de nuestro trabajo. La obtención de criptosporidios por los métodos de flotación-centrifugación, de Faust y Sheather, nos dieron resultados negativos (19, 20, 40).

Al revisar los expedientes de los pacientes hospitalizados encontramos que trabajamos con 244 personas, de estos, obtuvimos 119 pacientes positivos para el Cryptosporidium spp., y determinamos (tabla No. 2), que en un 56.3% (67 pacientes) esta coccidia se presentaba como el único agente parasitario. Este resultado puede apoyar la evidencia de que este protozoario por si mismo, causa patogenicidad en el hombre (8, 10, 15, 38). En esta misma tabla podemos observar que un 21.8% (26 pacientes) los criptosporidios, se encontraron asociados con Blastocystis-hominis, que en la actualidad se sabe que pertenece a la Clase Rhizopodea y que junto con el parásito en estudio ha emergido como un nuevo agente causal de diarreas (19, 27).

Encontramos también que un 5.9% (7 pacientes) esta coccidia se encontraba junto con Candida spp., y cuando esta levadura

se encuentra abundantemente en materia fecal, es indicadora -- de un cambio en los componentes de la microflora intestinal -- (33).

También hubo una asociación de un 5.1% (6 pacientes) con leucocitos polimorfonucleares, que nos indica que los criptosporidios pueden ir asociados a infecciones bacterianas, pues los primeros se encontraron en forma abundante. Un 4.2% (5 pacientes) con Entamoeba histolytica, un 2.5% (3 pacientes) con Giardia lamblia, aunque algunos autores reportan, esta última asociación a la inversa (19), nosotros la consideramos lógica, por la alta prevalencia de amibiasis en nuestro país (25).

Encontramos un 2.5% (3 pacientes) en los que se sumaba al Cryptosporidium spp., el Hymenolepis nana y un 1.7% (2 pacientes) con Ascaris lumbricoides.

Estas asociaciones, nos sugieren que el fecalismo humano-esta implicado en la trasmisión de esta coccidiasis (25, 30). Inferimos también, cuando lo encontramos asociado con Giardia-lamblia que podemos agregar al Cryptosporidium spp., en la lista de microorganismos causantes de gastroenteritis por agua contaminada, pues ambos son resistentes a la cloración (1, 5,

8, 29. 32).

Otros datos importantes de este trabajo, fué que de las 347 muestras de materia fecal de pacientes hospitalizados, encontramos 176 muestras positivas (tabla No. 4) en las cuales se excluye a los criptosporidios (tabla No. 5) y hallamos que un 3.4% (12 muestras) fueron positivas para Entamoeba histolytica, un 1.7% (6 muestras) con Giardia lamblia, un 2.0% (7 muestras) con Hymenolepis nana, un 0.6% (2 muestras) con Ascaris lumbricoides, pero los más altos resultados fueron de un 10.2 (63 muestras) con Candida spp., la cual estaba en forma abundante lo mismo que un 13.0% (45 muestras) para Blastocystis hominis (18, 26). Un 3.4% (12 muestras) fueron para los comensales Entamoeba coli y Endolimax nana. Hubo también un 0.4% (29 muestras) con abundantes leucocitos polimorfonucleares.

Al determinar en las dos poblaciones estudiadas, la incidencia de Criptosporidiosis, encontramos que, en los 244 pacientes hospitalizados sin saber que sufrían de diarrea, demostramos que 119 des estos (48.7%) fueron positivos para el Cryptosporidium spp., y 125 (51.3%) fueron negativos. (Gráfica No. 1)

La segunda población con la que trabajamos, fué de personas no hospitalizadas y asintomáticas, encontrando en esta, -- que entre los 74, 15 de ellos (28.3%) fueron positivos para la coccidia en estudio y 59 (79.7%) negativos. (Gráfica No. 2)

Al comparar la incidencia de Criptosporidiosis, entre la población de pacientes hospitalizados y la de personas no hospitalizadas y asintomáticas y realizando una prueba de Xi cuadrada, determinamos que $X_o^2 > X_t^2$ ($P_o = .05$ y $P_t = .01$). Como el valor de los casos observados fue mayor que el de los esperados (tabla No. 6), podemos decir que en los pacientes hospitalizados, existe un factor predisponente, que los hace ser más susceptibles a las infecciones y recidivas del cuadro clínico, -- causado por el Cryptosporidium spp., y que nosotros nos atrevemos a especular que se trata de los cuadros clínicos graves (Gráfica No. 3), razón por la cual fueron internados estos pacientes y que provocó que se alterar su estado inmunológico, -- colocando a esta población como inmunocomprometida (10, 19, -- 23, 25, 31. 33, 36, 37). Confirmando así la hipótesis de nuestro trabajo.

La incidencia alta de Criptosporidiosis encontrada entre los pacientes puede apoyar lo que Current (7) dice: que el ---

Cryptosporidium spp., es uno de los agentes " oportunistas " más importantes causante de epidemias diarréicas a nivel intrahospitalario y que esta población se debe considerar como un grupo de " alto riesgo " para adquirir esta parasitosis -- (18, 24, 33).

Las muestras fueron colectadas durante los meses de Marzo a Octubre, pues según Weikwel (38) los períodos del año en que ocurre más frecuentemente esta parasitosis, son los ca--- lientes y secos y termina cuando se inicia la temporada de -- lluvias (7, 10, 36). El mayor número de muestras positivas, - se localizaron en el mes de Mayo (Gráfica No. 4), pero conserva una frecuencia importante también en los demás meses.

Al hacer la distribución de acuerdo al sexo del paciente encontramos que 61 de ellos (51.3%), pertenecían al sexo masculino y que 58 (48.7%) al femenino, por lo que no encontramos una diferencia en susceptibilidad para la Criptosporidiosis en ambos sexos.

El rango de edades (Gráfica No. 5), nos demuestra que el mayor número de casos, se presentó entre los 20/40 años de edad, aunque la distribución que presenta nuestra gráfica nos_

indica que la frecuencia en otras edades es también importante. Esto concuerda con Fayer y Ungar (10), los cuales reportan que el rango de edades a las que afecta esta parasitosis va desde los tres días de nacido, hasta los noventa y cinco años.

Entre los 119 pacientes positivos para el Cryptosporidium spp., (Gráfica No. 6) encontramos que un 39.0% (46 pacientes) sufrían de diarrea, por consecuencia un 61.0% (73 pacientes) no la padecían. Un 29.0% (35 pacientes) presentaban cólico abdominal, es importante hacer notar que estos dos signos representan el " sine qua non " en las infecciones por esta coccidia. En un 20.0% (24 pacientes), la materia fecal venía acompañada de gran cantidad de moco y un 12.0% (14 pacientes) presentaban sangre en heces.

Con el 61.0% anterior (73 pacientes) demostramos la existencia de " portadores asintómicos " (7. 10, 36). También que estos sujetos son candidatos a futuras reinfecciones endógenas pues esta coccidia como parte de su ciclo biológico, forma oocistos de pared delgada, que provocan en el huésped una autoinfección (10).

CONCLUSIONES

Cuadros clínicos graves, tales como cáncer, colangenopatías, leucemias, neumopatías crónicas, hemofilia y SIDA, actúan como factores predisponentes, que aumentan la incidencia de Criptosporidiosis en pacientes hospitalizados. Con los resultados obtenidos en nuestro trabajo, podemos considerar a esta población, como un grupo de " alto riesgo ", ya sea para adquirir o sufrir recaídas causadas por la coccidia llamada Cryptosporidium spp.

Como un alto porcentaje de estos pacientes no presentaban diarrea, llegamos a la conclusión que son " portadores " del parásito a nivel intestinal y por tanto transmisores, por lo que sugerimos que debe haber una gran " precaución entérica ", para evitar su diseminación, especialmente en el ambiente hospitalario. Su mecanismo de transmisión nos hace elucidar que esta parasitosis irá " in crescendo " y porque además el hombre funciona en el ciclo de este esporozoario como fuente de infección.

Nuestros datos muestran también que los criptosporidios son responsables de una proporción alta de gastroenteritis --

que no son diagnosticadas, porque los laboratorios, aún no han implementado las técnicas adecuadas para su demostración. Así que nosotros proponemos que para verificar la presencia de esta coccidia en materia fecal, es necesario trabajar con una muestra grande (2 c.c. de heces), para llegar al diagnóstico correcto. Con el mismo fin es imprescindible utilizar tres pasos, el coproparasitoscópico concentrado, observado al microscopio, en seco fuerte (40X) y en inmersión (100X) con solución de lugol parasitológico (5%) y con azul de metileno Buffer de acetatos 0.2M., pH= 5.4, y practicar el frotis de materia fecal teñido con la técnica de Ziehl-Neelsen modificada por García. Estos procedimientos son más prácticos, menos costosos y efectivos y por lo tanto estimamos que ya deben formar parte de la rutina parasitológica.

Hay pocos trabajos en los referente al Cryptosporidium spp., en la República Mexicana, de allí que se marque la necesidad de estudios prospectivos para conocer mejor la epidemiología, patogénesis y tratamiento de esta parasitosis.

RESUMEN

Se trabajo con dos poblaciones, una de pacientes hospitalizados en la Clínica 25 del I.M.S.S. y la otra de personas no hospitalizadas y asintomáticas. En la primera trabajando con 244 pacientes, se obtuvo una incidencia de 48.7% (119 pacientes) que fueron positivos para el Cryptosporidium spp., y 51.3% (125 personas) que resultaron negativas.

En la segunda población se trabajó con 74 personas y se obtuvo una incidencia de 20.3% (15 personas) positivas para la coccidia en cuestión y 79.7% (59 personas) negativas.

Al comparar la incidencia de Criptosporidiosis entre ambas poblaciones y efectuando una prueba de Chi cuadrada, se demostró que $X^2 > X^2_c$ ($P_0 = .05$ y $P_1 = .01$), como el valor de los casos observados fué mayor que el de los esperados, se determinó que entre los pacientes hospitalizados, existe un factor predisponente para sufrir esta parasitosis.

Los pacientes al ser hospitalizados tenían el diagnóstico previo de un cuadro clínico grave, tal como: cáncer, tumores abdominales, neumonías crónicas, leucemia, hemofilia y SIDA. Se

consideró que estos cuadros, provocan un inmunocompromiso en el huésped que lo hace más susceptible a adquirir o sufrir reidivas debidas a esta coccidia.

Al evaluar los diferentes métodos de diagnóstico que se utilizaron, nos dimos cuenta que es importante trabajar las muestras de materia fecal utilizando el método de sedimentación en el cual se obtiene una muestra grande.

Se utilizaron tres técnicas parasitológicas siendo estas: el coproparasitoscópico concentrado, observado con lugol y azul de metileno Buffer de acetatos 0.2 M. pH.= 5.4 y el del frotis del sedimento teñido con la coloración de Ziehl-Neelsen modificado por García.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Bogaerts, J., Lepage, J., Rouvroy, D., Vandepitte, J.
Cryptosporidium sp., a Frequent cause of Diarrhea in
Central Africa.
J. Clin. Microbiol. 1984; 20(5): 874-876.
- 2.- Bronsdon, M.A.
Rapid Dimethyl sulfoxide-Modified Acid-Fast stain of
Cryptosporidium Oocyst un Stool Specimens.
J. Clin. Microbiol. 1984; 19(6): 952-953.
- 3.- Cañedo Dorantes L.
Investigación Clínica. Ed. Interamericana, 1987.
- 4.- Centers for Disease Control.
Cryptosporidiosis among children attending day-care
Centers Georgia, Pennsylvania, Michigan, California, New
Mexico.
MMWR. 1984; 33(42): 599-601.
- 5.- Centers for Disease Control.
Cryptosporidiosis-New Mexico.
MMWR. 1987; 36(33): 561-563.
- 6.- Cruz R.J., Cano, F., Caceres, P., Chem, F., and Pareja, G.
Infection and Diarrhea caused by Cryptosporidium sp., among
Guatemala Infants.
J. Clin. Microbiol. 1988; 26(1): 88-91.
- 7.- Current, L.W.
The Biology of Cryptosporidium sp.
ASM News. 1988; 54(11): 605-611.
- 8.- D'Antonio, G.R., Winn, R.E., Taylor, J.E., Gustafson, T.L.,
Current, W.L., Rhodes, M.M., Gary, W., Zajac, R.A.
A Waterborne Outbreak of Cryptosporidiosis in Normal Host.
Ann. Intern Med. 1985; 103: 886-888.
- 9.- Faust, E.C.
Comparative efficiency of various technics for the
diagnosis of Prorozoa and Helminths in feces.
Am. J. Trop. Hyg. 1938; 18: 169-183.

- 10.- Fayer, R., and Ungar, B.L.P.
Cryptosporidium spp. and Cryptosporidiosis.
Microbio. Rev. 1986; 50(4): 458-483.
- 11.- Harp A. James, and Wannemuehler, W.H.
Susceptibility of Germfree of Antibiotic Treated Adult Mice
to C. parvum.
Infect. Immun. 1988; 56(8): 2006-2010.
- 12.- Janoff, N.E. and Reller, B.L.
Cryptosporidium Species a Protean Protozoan.
J. Clin. Micr. 1987; 25(6): 967-975.
- 13.- Garcia, S.L., Bruckner, D.A., Bremer, T.C., Shimizu, R.Y.
Techniques for the Recovery and Identification of
Cryptosporidium Oocysts from stool specimens.
J. Clin. Microbiol. 1986; 18(1): 185-190.
- 14.- Hojlyng, N., Molbak, K., Soren, J.
Cryptosporidium spp. a Frequent cause of Diarrhea in
Liberian Children.
J. Clin. Microbiol. 1986; 23(6): 1109-1113.
- 15.- Koch, K.L., Phillips, D.J., Aber, R.C., Current, W.L.
Cryptosporidiosis in Hospital Personnel.
Ann. Intern. Med. 1985; 102: 593-596.
- 16.- Levine, J.A., Estevez, E.G.
Method for Concentration of Parasites from Small Amounts of
Feaces.
J. Clin. Microbiol. 1983; 18(4): 786-788.
- 17.- Marshall, A.R., Al-Jomaili, I.J., Fenwick, G.A., Bint, A.J.
and Recora, C.D.
Cryptosporidiosis in Patients at large Teaching Hospital.
J. Clin. Microbiol. 1987; 25(1): 172-173.
- 18.- Martínez, V.A.N., Aluja, S.A.
Evaluación de dos Métodos de tinción de frotis fecales para
el diagnóstico de la Cryptosporidiosis en becerros.
Vet. Mex. 1986; 17: 303-307.

- 19.- Mata Leonardo.
Cryptosporidium and other protozoa in diarrheal disease in less developed countries.
Ped. Infect. Dis. 1986; 5(1): S117-S129.
- 20.- McNabb, S.J., Hensel, D.M., Welch, D.F., Heijbel, H., McKee G.L., Istra, G.R.
Comparison of Sedimentation and Flotation Techniques for Identification of Cryptosporidium sp., Oocysts in a large Outbrake of Human Diarrhea.
J. Clin. Microbiol. 1985; 22(4): 587-589.
- 21.- Nachamkin, I., Jones, A., Hasyn, H.
Routine Parasitological Examination for Cryptosporidium.
J. Infect. Dis. 1986; 154(2): 369-370.
- 22.- Navin, R.T., Hardy, A.N.
Cryptosporidiosis in Patients with AIDS.
J. Infect. Dis. 1987; 155(1):150.
- 23.- Navin, R.T., Juranek, D.D.
Cryptosporidiosis: Clinical, Epidemiologic and Parasitologic Review.
Rev. Infect. Dis. 1984; 6(3): 313-327.
- 24.- Ratnam, S., Packlock, J., Mac Donald, E., Whitly, D., Jong, A. and Cooper, R.
Ocurrence of Cryptosporidium Oocyst in Fecal Sample Submittca for Routine Microbiological Examination.
J. Clin. Microbiol. 1983; 22(3): 402-404.
- 25.- Rhode, J.E.
Selective Primary Healt Care: Strategies for Control of Disease in the Developing World. XV. Acute Diarrhea.
Rev. Infect. Dis. 1984; 6(5): 689-703.
- 26.- Sheather, A.L.
The Detection of Intestinal PProtozoa and Mange Parasites by a Flotation Technique.
J. Comp. Pathol. 1923; 36: 266-275.
- 27.- Sheehon, D.J. and Mc Kitrik, J.C.
Association of Blastocystis hominis with signs and syntoms of Human Disease.
J. Clinic. Microbiol. 1986; 24: 548-550.

- 28.- Soave, R. and Armstrong, D.
Cryptosporidium and Cryptosporidiosis.
Rev. Infect. Dis. 1986; 8(6): 1012-1023.
- 29.- Soave, R., Garcia, S.V., Garrocho, B.H.K.
Cryptosporidiosis in a Rural Community in Central Mexico.
J. Infect. Dis. 1989; 159(6): 1160-1161.
- 30.- Soave, R., Soave, P.
Three-step Stool Examination for Cryptosporidiosis in 10
Homosexual Men with Protracted Watery Diarrhea.
J. Infect. Dis. 1983; 147(5): 824-828.
- 31.- Soave, R., and Johnson, W.D.
Cryptosporidium and Isospora belli Infections.
J. Infect. Dis. 1988; 157(2): 225-229.
- 32.- Soave, R., Soave, P.
Cryptosporidiosis, Traveler's Diarrhea in Two Families.
Arch. Intern. Med. 1985; 145: 70-72.
- 33.- Tashjian, L.S., and Abranson, S.J.
Focal Hepatic Candidiasis: A Distinct Clinical Variant of
Candidiasis in Immunocompromised Patients.
Rev. Infect. Dis. 1984; 6(5): 669-703.
- 34.- Tzipori, S.
Cryptosporidiosis in animals and humans.
Microbiol. Rev. 1983; 47: 84-96.
- 35.- Tzipori, S.
Cryptosporidiosis and Routine Parasitological Diagnosis.
J. Infect. Dis. 1987; 156(1): 248.
- 36.- Ungar, B.L.P., Soave, R.M., Fayer, R., Nash, T.E.
Enzyme Immunoassay Detection of Immunoglobulin M and G Anti-
bodies to Cryptosporidium in Immunocompetent and Immunocom-
promised Persons.
J. Infect. Dis. 1983; 153(3): 570-578.
- 37.- Walsh, T.J., and Pizzo, P.A.
A Classification for Hospital-Acquired fungal Infections
and Mycosis Arising from Endogenous flora or Reactivation.
Ann. Rev. Microbiol. 1988; 42: 517-545.

- 38.- Weikel, C.S., Johnston, L.I., De Sousa, M.A., Guerrant, R.L.
Cryptosporidiosis in Northeastern Brazil: Association with Sporadic Diarrhea.
J. Infect. Dis. 1985; 51(5): 963-965.
- 39.- Young, V.M., Felsenfeld, O., Shales, W.H.
A study of Laboratory Methods for Diagnosing Entamoeba Histolytic.
J. Parasitol. 1951; 18(4): 126-130.
- 40.- Zar, F., Geisler, J., and Browns, A.V.
Asymptomatic Carriage of Cryptosporidium in the Stool of Patient with Acquired Immunodeficiency Syndrome.
J. Infect. Dis. 1985; 161(1): 195.
- 41.- Zierdt, W.S.
Concentration and Identification of Cryptosporidium sp. Use of a Parasite Concentrator.
J. Clin. Microbiol. 1984; 20(5): 860-861.

